

CAPILLARYS PROTEIN(E) 6

Ref. 2003

Ref. 2023*

IVD

CE

2012/12

UTILIZACIÓN

El kit CAPILLARYS PROTEIN(E) 6 permite la separación en medio alcalino (pH 10,0) de las proteínas de suero y orina humanos, mediante electroforesis capilar en el sistema automático CAPILLARYS.
Las proteínas del suero humano normal se separan en seis fracciones principales.
Las proteínas urinarias se separan en cinco zonas, después de la preparación de las muestras de orina mediante el kit CAPILLARYS / MINICAP URINE (vea las instrucciones de uso del kit CAPILLARYS / MINICAP URINE, SEBIA, referencia 2013).
El sistema CAPILLARYS permite realizar todas las etapas de la electroforesis hasta la obtención del perfil proteico para el análisis cualitativo o cuantitativo. Las proteínas, separadas en capilares de sílice fundido, son detectadas directamente en una burbuja existente en el capilar mediante espectrofotometría de absorbancia a 200 nm. Los perfiles electroforéticos son analizados visualmente para detectar las anomalías. La detección directa proporciona una cuantificación relativa precisa de cada fracción.

Para uso en diagnóstico *In Vitro*.

NOTA : En estas instrucciones, el nombre "CAPILLARYS" es usado para designar los sistemas automáticos CAPILLARYS, CAPILLARYS 2 y CAPILLARYS 2 FLEX-PIERCING, SEBIA.

PRINCIPIO DEL TEST

La electroforesis de las proteínas del suero humano es un análisis muy útil en el laboratorio de análisis clínicos para investigar las modificaciones del perfil proteico. Paralelamente a las técnicas de electroforesis en diferentes soportes, entre los que está el gel de agarosa, se ha desarrollado la técnica de la electroforesis capilar, que ofrece las ventajas de una automatización completa del análisis, separaciones rápidas y una buena resolución. Se define como una técnica de separación electrocinética realizada en un tubo de diámetro interno inferior a 100 μm lleno de un tampón compuesto por electrolitos. Se considera una tecnología intermedia entre la electroforesis de zona en soporte y la cromatografía líquida.
El sistema CAPILLARYS usa el principio de la electroforesis capilar en solución libre, que representa la forma más corriente de electroforesis capilar. Permite la separación de moléculas cargadas en función de su movilidad electroforética propia en un tampón de un pH dado, y, según el pH del electrolito, de un flujo electroendosmótico más o menos importante. El sistema CAPILLARYS posee 8 capilares en paralelo, permitiendo realizar 8 análisis simultáneos. En este sistema, la inyección de las muestras en los capilares (diluidas con el tampón de análisis) se realiza en el ánodo por aspiración. La separación se lleva a cabo aplicando una diferencia de potencial de varios miles de voltios en los extremos de cada capilar. La detección directa de las proteínas se efectúa a 200 nm en el lado catódico. Los capilares se lavan a continuación con una solución de lavado, y luego con el tampón de análisis. Con el tampón usado de pH alcalino, el orden de migración de las proteínas séricas es el siguiente: gamma globulinas, beta-2 globulinas, beta-1 globulinas, alfa-2 globulinas, alfa-1 globulinas y albúmina. Cada fracción contiene uno o varios constituyentes séricos.

REACTIVOS SUMINISTRADOS EN LOS KITS CAPILLARYS PROTEIN(E) 6

ATENCIÓN : Ver las fichas de datos de seguridad.

COMPONENTES	REF. N° 2003	REF. N° 2023*
Tampón (listo para usar)	2 contenedores de 700 mL	8 contenedores de 700 mL
Solución de lavado (solución concentrada)	1 vial de 75 mL	4 viales de 75 mL
Segmentos de dilución	1 bolsa de 90	4 bolsas de 90
Filtros	3 filtros	12 filtros

** CAPILLARYS PROTEIN(E) 6 MAXI-KIT*

PARA OBTENER RESULTADOS ÓPTIMOS :
Los elementos de un mismo kit deben ser usados conjuntamente y según las instrucciones suministradas.
LEA DETENIDAMENTE LAS HOJAS DE INSTRUCCIONES.

ATENCIÓN : No use agua destilada o desionizada comercial, como por ejemplo el agua para planchar (riesgo de deterioro importante de los capilares). Use exclusivamente agua de calidad ultrapura, como el agua para inyección.

1. TAMPÓN

Preparación
El tampón está listo para usar. Contiene : tampón pH 10,0 ± 0,5 ; componentes inocuos a las concentraciones usadas, necesarios para un funcionamiento óptimo.

Uso
Tampón para el análisis de las proteínas séricas mediante electroforesis capilar.

Conservación, estabilidad y señales de deterioro
El tampón debe conservarse a temperatura ambiente (de 15 a 30 °C) o en nevera (entre 2 y 8 °C). Es estable hasta la fecha de caducidad indicada en el kit o en la etiqueta del vial de tampón. No conserve el tampón cerca de una ventana o de una fuente de calor.
NOTA: Si el tampón de análisis ha sido conservado a 2 – 8 °C, conviene dejar que alcance la temperatura ambiente antes de usarlo.
NO LO CONGELE.
Deseche el tampón si cambia de aspecto o aparece turbidez debido a contaminación microbiana, a un precipitado o a partículas en suspensión.

2. SOLUCIÓN DE LAVADO

Preparación
El vial de solución de lavado concentrada debe completarse hasta 750 mL con agua destilada o desionizada.
Después de la dilución, la solución de lavado contiene una solución alcalina pH ≈ 12.

Uso
Para lavar los capilares después de la separación electroforética de las proteínas.
IMPORTANTE: Antes de llenar el contenedor de solución de lavado, se recomienda lavar con agua destilada o desionizada en abundancia el cuello del contenedor, el conector y el tubo para evitar la acumulación de sales.

Conservación, estabilidad y señales de deterioro

Las soluciones de lavado concentrada y diluida deben conservarse a temperatura ambiente o en nevera en contenedores cerrados para evitar la evaporación. La solución concentrada es estable hasta la fecha de caducidad indicada en el kit o en la etiqueta del vial de solución de lavado.
La solución diluida es estable durante 3 meses.
Deseche la solución de lavado diluida si cambia de aspecto o aparece turbidez debido a contaminación microbiana.

3. SEGMENTOS DE DILUCIÓN

Uso

Segmentos de dilución, de un solo uso, para que el aparato realice la dilución de las muestras de suero. Deben colocarse en el cargador de muestras.
ATENCIÓN: Manipule con precaución los segmentos de dilución que contengan muestras biológicas.

4. FILTROS

Uso

Filtros de un solo uso para el filtrado del tampón, de la solución de lavado reconstituida y del agua destilada o desionizada (usada para la limpieza de los capilares).

IMPORTANTE: Cambie sistemáticamente los filtros al empezar un nuevo kit.

Enrosque un filtro al final de cada tubo que cuelga de los tapones de los contenedores de tampón, de solución de lavado y de agua destilada o desionizada. Al cambiar los filtros, lave los conectores y los tubos con agua destilada o desionizada.

Conservación

Antes de usarlos, los filtros deben conservarse en su embalaje original herméticamente cerrado en un lugar seco a temperatura ambiente o en nevera.

REACTIVOS NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

ATENCIÓN : Ver las fichas de datos de seguridad.

1. AGUA DESTILADA O DESIONIZADA

Uso

Para lavar los capilares del aparato automático para electroforesis capilar, CAPILLARYS, SEBIA.
Se recomienda usar agua destilada o desionizada filtrada (con un filtro de porosidad ≤ 0,45 µm).
Renueve el agua cada día para evitar contaminaciones microbianas. En caso de conservación prolongada, añada 350 µL/L de CLEAN PROTECT (SEBIA, referencia nº 2059: 1 vial de 5 mL).

IMPORTANTE: Antes de llenar el contenedor de agua, se recomienda lavarlo con agua destilada o desionizada.

2. CAPICLEAN

Presentación

El vial de la solución enzimática concentrada CAPICLEAN (SEBIA, referencia n° 2058 : 1 vial de 25 mL) contiene: enzimas proteolíticos, surfactantes y aditivos, inocuos a las concentraciones usadas, necesarios para un funcionamiento óptimo.

Uso

Para la limpieza de la cánula de muestras del aparato automático para electroforesis capilar, CAPILLARYS, SEBIA, durante el ciclo de limpieza CAPICLEAN.

IMPORTANTE: Realice un ciclo de limpieza con CAPICLEAN como mínimo una vez por semana y como máximo una vez al día, o cada 500 análisis cuando se realicen en menos de una semana.

Consulte la hoja de instrucciones del CAPICLEAN, SEBIA.

IMPORTANTE: Después de la limpieza de la cánula de muestras, no reutilice el segmento de dilución.

Conservación, estabilidad y señales de deterioro

El CAPICLEAN debe conservarse en nevera (entre 2 y 8 °C). Es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial. NO LO CONGELE.
Pueden observarse un precipitado o partículas agregadas en suspensión (flóculos) en el vial del CAPICLEAN sin que su funcionamiento se vea afectado.
No resuspenda el precipitado o las partículas. Se recomienda pipetear sólo el sobrenadante.

3. SOLUCIÓN DE HIPOCLORITO DE SODIO (para la limpieza de la cánula de muestras)

Preparación

Prepare una solución de hipoclorito de sodio (lejía) con un 2 - 3 % de cloro, a partir de una dosis concentrada de 250 mL con un 9,6 % de cloro diluida hasta 1 litro (volumen final) con agua destilada o desionizada fría.

Uso

Para limpiar la cánula de muestras del aparato automático para electroforesis capilar, CAPILLARYS, SEBIA (mantenimiento semanal para eliminar cualquier proteína que se haya adsorbido a la cánula).

Consulte las instrucciones del CAPILLARYS, SEBIA.

- Use el cargador de muestras específico para el mantenimiento (n° 100).
- Coloque en este cargador, en la posición 1, un tubo de hemólisis que contenga 2 mL de la solución de hipoclorito de sodio preparada anteriormente.
- Introduzca el cargador n° 100 de mantenimiento en el sistema CAPILLARYS.
- En el menú de la ventana "MANTENIMIENTO" que aparecerá en pantalla, seleccione la opción "Iniciar la limpieza de la cánula (solución de hipoclorito de sodio)", y luego valide.

Conservación, estabilidad y señales de deterioro

La solución de hipoclorito de sodio diluida puede conservarse 3 meses a temperatura ambiente en un recipiente de plástico cerrado herméticamente, protegido de los rayos solares y de cualquier fuente de calor o ignición, y alejado de los ácidos y del amoniaco.

4. SOLUCIÓN DE LAVADO CAPILLARYS / MINICAP

Preparación

El vial de la solución de lavado concentrada (SEBIA, referencia n° 2052 : 2 viales de 75 mL) debe completarse hasta 750 mL con agua destilada o desionizada.
Después de la dilución, la solución de lavado contiene una solución alcalina pH ≈ 12.

Uso

Para lavar los capilares del CAPILLARYS. Reactivo adicional necesario en caso de realizar series inferiores a 40 análisis.

IMPORTANTE: Antes de llenar el contenedor de solución de lavado, se recomienda lavar con agua destilada o desionizada en abundancia el cuello del contenedor, el conector y el tubo para evitar la acumulación de sales.

Conservación, estabilidad y señales de deterioro

Las soluciones de lavado concentrada y diluida deben conservarse a temperatura ambiente o en nevera en contenedores cerrados para evitar la evaporación. La solución concentrada es estable hasta la fecha de caducidad indicada en el kit o en la etiqueta del vial.
La solución diluida es estable durante 3 meses.
Deseche la solución de lavado diluida si cambia de aspecto o aparece turbidez debido a contaminación microbiana.

NOTAS :

Las pruebas realizadas durante la validación de los reactivos muestran que, para las diferentes soluciones y usando material adaptado al volumen a reconstituir, una variación del volumen final de un ± 5 % no tiene ningún efecto adverso en el análisis.
El agua destilada o desionizada, usada para la reconstitución de las soluciones, debe estar exenta de contaminación bacteriana o fúngica (use un filtro de 0,22 µm) y debe tener una resistividad superior a 10 Megohms x cm.

EQUIPAMIENTO Y ACCESORIOS NECESARIOS

1. Sistema de electroforesis capilar CAPILLARYS SEBIA : CAPILLARYS referencia n° 1220, CAPILLARYS 2 referencia n° 1222 ó CAPILLARYS 2 FLEX-PIERCING referencia n° 1227.
2. Cargadores de muestras, suministrados con el sistema CAPILLARYS.
3. Contenedores de plástico suministrados con el sistema CAPILLARYS: contenedor para la limpieza de los capilares (debe llenarse con agua destilada o desionizada), contenedor de solución de lavado y contenedor de desechos.

MUESTRAS PARA EL ANÁLISIS

ANÁLISIS DE SUEROS

Extracción y conservación de las muestras

El análisis se hace con sueros frescos. Los sueros deben obtenerse de acuerdo con los procedimientos establecidos de uso en el laboratorio clínico.
Las muestras pueden conservarse un máximo de 10 días en nevera (entre 2 y 8 °C).
Para conservaciones más prolongadas, congele las muestras rápidamente (como máximo durante las 8 horas siguientes a su obtención). Los sueros congelados son estables durante 1 mes.
Las proteínas de las muestras conservadas entre 2 y 8 °C se degradan, en particular el complemento C3.
Un suero conservado unos 10 días entre 2 y 8 °C presenta una fracción beta-2 que disminuye progresivamente y puede aparecer deformada (con aparición de pequeños picos suplementarios en la zona gamma y/o beta-1 debido a la degradación del complemento C3), y una fracción alfa-2 cuya forma puede estar ligeramente modificada.
A partir de los 10 días de conservación, la fracción beta-1 se deforma ensanchándose, y la fracción beta-2 desaparece casi totalmente.

NOTA: Para su transporte, las muestras pueden permanecer a temperatura ambiente durante un máximo de 5 días. Por tanto, se recomienda transportarlas en nevera (2 - 8 °C).

Preparación de las muestras

Use directamente muestras de suero sin diluir.
Después de conservarlos en nevera (entre 2 y 8 °C) o congelarlos, algunos sueros (especialmente aquellos que contienen una crioglobulina o un criogel) se vuelven viscosos o turbios. Una vez que hayan alcanzado el estado líquido se pueden analizar directamente.
Igualmente, los sueros que contengan una inmunoglobulina polimerizada pueden analizarse directamente, sin ningún tratamiento previo.
Se recomienda observar el aspecto del suero antes del análisis (por si hay hemólisis, presencia de crioglobulinas o turbidez).

Muestras a descartar

- No use muestras hemolizadas. La hemólisis puede provocar un desdoblamiento de la fracción alfa-2.
- No use muestras de suero antiguas o mal conservadas, ya que las fracciones beta estarán muy modificadas.
- No use plasma. El fibrinógeno migra en posición beta-2 (pico adicional en beta-2 o superpuesto con la fracción beta-2 con aumento eventual del porcentaje de esta fracción). Su presencia en algunas muestras (plasma, suero mal defibrinado o suero de paciente bajo tratamiento anticoagulante) puede falsear la interpretación del análisis (confusión con una banda monoclonal que migre en posición beta-2 o aumento del porcentaje de esta fracción). En el caso de analizar una muestra de plasma antigua (no se recomienda), el complemento C3, que es lábil, se degrada parcialmente a lo largo del tiempo, y la fracción beta-2 contiene esencialmente fibrinógeno.

ANÁLISIS DE ORINAS

Vea las instrucciones de uso del kit CAPILLARYS / MINICAP URINE, SEBIA, referencia 2013.

PROCEDIMIENTO

El sistema CAPILLARYS es un instrumento multiparamétrico automático que permite realizar el análisis de las proteínas séricas en 8 capilares en paralelo según las etapas siguientes:
- lectura de los códigos de barras de los tubos primarios (hasta 8) y del cargador ;
- dilución de las muestras a partir de los tubos primarios ;
- lavado de los capilares ;
- inyección de las muestras diluidas ;
- separación y detección directa de las proteínas en los capilares.

Las etapas manuales son las siguientes:
- colocación de los tubos primarios en los cargadores ;
- introducción en el sistema CAPILLARYS ;
- recuperación de los cargadores después del análisis.

LEA DETENIDAMENTE EL MANUAL DE INSTRUCCIONES DEL CAPILLARYS.

I. PREPARACIÓN DEL ANÁLISIS ELECTROFORÉTICO

1. Encienda el CAPILLARYS y el ordenador de control.
2. Abra el programa de gestión Phoresis (Capillarys) y valide el nivel de los reactivos, tras lo cual el aparato se iniciará automáticamente.
3. Use el kit CAPILLARYS PROTEIN(E) 6 con el programa de análisis "PROTEIN(E) 6". Para saber cómo seleccionar el programa de análisis "PROTEIN(E) 6" y conectar el contenedor de tampón CAPILLARYS PROTEIN(E) 6 al aparato, lea detenidamente el manual de instrucciones del CAPILLARYS.
4. El cargador de muestras posee 8 posiciones para tubos de muestra. Coloque hasta 8 tubos primarios en cada cargador, de forma que el código de barras de cada tubo quede encarado hacia la ventana de lectura del mismo.

   IMPORTANTE: Si el número de tubos que va a analizar es inferior a 8, complete el cargador poniendo tubos con agua destilada o desionizada.
5. Ponga un segmento de dilución nuevo en cada cargador. En caso de ausencia del segmento, el cargador será expulsado.
6. Introduzca el (o los) cargador(es) completo(s) en el sistema CAPILLARYS por el orificio de entrada situado en medio del aparato. Se pueden introducir hasta trece cargadores de muestras a la vez, pudiéndose añadir nuevos cargadores de forma continua a medida que se vaya completando el análisis de los cargadores ya introducidos. Cuando quiera analizar un suero control, use el cargador específico n° 0, previsto a este efecto (debe colocar el suero control en la posición 1 del cargador y un segmento de dilución nuevo).
7. Saque de la cinta de salida, situada a la izquierda del aparato, los cargadores ya analizados.
8. Coja con precaución el segmento de dilución usado y deséchelo.

   ATENCIÓN: Manipule con precaución los segmentos de dilución que contengan muestras biológicas.

DILUCIÓN - MIGRACIÓN - DESCRIPCIÓN DE LAS ETAPAS AUTOMÁTICAS

1. Lectura de los códigos de barras de los tubos primarios de muestra y del cargador de muestras.
2. Dilución de los sueros con el tampón de análisis, con limpieza de la cánula de muestras entre cada dilución.
3. Lavado de los capilares.
4. Inyección de las muestras diluidas en los capilares.
5. Migración a voltaje constante con temperatura controlada por efecto Peltier, durante unos 4 minutos.
6. Lectura a 200 nm y aparición simultánea del perfil proteico en la pantalla del ordenador.

NOTA: Estas etapas se realizan consecutivamente para el primer cargador de muestras introducido: los perfiles correspondientes a los tubos analizados se obtienen al cabo de 10 minutos. Para el cargador de muestras siguiente, las etapas 1 y 2 (lectura de los códigos de barras y dilución de los sueros) se realizan durante la etapa 5 (migración) del cargador anterior, disminuyendo el tiempo de obtención de resultados.

II. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

Desde el final del análisis, se realiza automáticamente la cuantificación relativa de las fracciones y se pueden examinar los perfiles obtenidos. A partir de la concentración de proteínas totales de la muestra se pueden calcular las concentraciones de cada fracción.
Los perfiles electroforéticos se analizan visualmente para detectar anomalías.
Los perfiles se presentan por defecto en modo redibujado: este modo acerca la fracción alfa-1 al pico de albúmina.
Opcionalmente, el modo estándar permite visualizar la curva inicial o curva no tratada.
LEA DETENIDAMENTE EL MANUAL DE INSTRUCCIONES DEL CAPILLARYS.

III. FIN DE LA SECUENCIA DE ANÁLISIS

El usuario debe realizar el procedimiento de extinción al final de la sesión de trabajo para conservar los capilares en condiciones óptimas.

IV. LLENADO DE LOS CONTENEDORES DE REACTIVO

El aparato automático CAPILLARYS permite una gestión automática de los reactivos.

IMPORTANTE: Es necesario seguir el procedimiento previsto para el cambio de los contenedores de reactivo (si no se hace correctamente los contenedores pueden despresurizarse y los análisis pueden verse afectados) y respetar el código de colores contenedor – conector en cada cambio de contenedor.

La aparición de la ventana de gestión de los reactivos indica que es necesario cambiar uno o varios reactivos:
- colocar un nuevo contenedor de tampón de análisis y/o,
- llenar el contenedor de lavado con la solución de lavado reconstituida y/o,
- llenar el contenedor de limpieza con agua destilada o desionizada filtrada y/o,
- vaciar el contenedor de desechos.

ATENCIÓN : No use agua destilada o desionizada comercial, como por ejemplo el agua para planchar (riesgo de deterioro importante de los capilares). Use exclusivamente agua de calidad ultrapura, como el agua para inyección.

IMPORTANTE: Se recomienda lavar con agua destilada o desionizada en abundancia el contenedor de limpieza antes de llenarlo.
CONSULTE EL MANUAL DE INSTRUCCIONES DEL CAPILLARYS.

RESULTADOS

Control de calidad

Se recomienda incluir una serie de análisis con un suero control al iniciar la sesión de trabajo.

Valores

La detección directa en el capilar a 200 nm proporciona las concentraciones relativas (porcentajes) de cada fracción.
Los valores normales (media ± 2 desviaciones típicas) de cada fracción sérica han sido establecidos a partir de una población de 246 adultos normolipémicos (hombres y mujeres) en buen estado de salud:

	CAPILLARYS PROTEIN(E) 6
Albúmina	55,8 - 66,1 %
Alfa-1 globulinas	2,9 - 4,9 %
Alfa-2 globulinas	7,1 - 11,8 %
Beta globulinas	8,4 - 13,1 %
Beta-1 globulinas	*4,7 - 7,2 %*
Beta-2 globulinas	*3,2 - 6,5 %*
Gamma globulinas	11,1 - 18,8 %

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores normales.

NOTA: Los valores normales han sido obtenidos con los parámetros de integración por defecto del programa (alisado 2 y deriva automática).

Interpretación

Una deformación del perfil comparado con el perfil normal es signo de anomalía, especialmente la aparición de un pico fino suplementario en la zona de las gammaglobulinas.
El complemento C4 migra entre las zonas beta-1 y beta-2; la PCR migra en posición beta-2, ver PERFILES ELECTROFORÉTICOS.
El aumento relativo de la fracción beta-2 respecto a la fracción beta-1 en un contexto clínico en el que no hay enfermedad inflamatoria, debe constituir una señal de alerta que indica que hay que realizar investigaciones complementarias.
Puede sospecharse la presencia de un componente monoclonal en el suero si el mensaje de alerta siguiente aparece en pantalla : " Warning: Migration centering is out of range ", o si el perfil proteico está retardado o deformado. Para confirmar la presencia de un componente monoclonal en la muestra, será necesario realizar un tratamiento reductor con beta-mercaptoetanol y repetir el análisis tras el mismo. En este caso, prepare una solución reductora añadiendo un 1 % de beta-mercaptoetanol al Fluidil (SEBIA, referencia nº 4587, 1 vial de 5 mL). Estando el sistema CAPILLARYS preparado para analizar muestras, añada 100 μL de solución reductora a 300 μL de suero puro. Agite en el vórtex y deje que incube durante 15 minutos como máximo y luego siga con el procedimiento habitual.

IMPORTANTE : Después del tratamiento reductor con beta-mercaptoetanol, la muestra debe ser analizada inmediatamente ; no debe haber ningún otro cargador en espera de ser analizado en el sistema CAPILLARYS.

Cualquier aspecto monoclonal u oligoclonal debe confirmarse usando:
- el kit de inmunotipado SEBIA, CAPILLARYS IMMUNOTYPING o,
- los kits de inmunofijación SEBIA, HYDRAGEL IF.

Consulte la BIBLIOGRAFÍA si desea obtener información complementaria para la interpretación de los perfiles obtenidos.
Zona alfa-2:
• Algunas muestras pueden presentar un desdoblamiento según el fenotipo de la haptoglobina, ver PERFILES ELECTROFORÉTICOS.

Interferencias y limitaciones

Ver MUESTRAS PARA EL ANÁLISIS.
La presencia en la muestra de una concentración importante de lipoproteínas / triglicéridos o de pigmentos biliares (con una coloración del suero amarilla-verde característica) puede dar lugar a la aparición de una bisalbuminemia en el perfil electroforético.
En caso de sospecha de contaminación (extremadamente rara) entre dos muestras, ligada a la presencia de ciertas proteínas monoclonales (de concentración muy elevada, por ejemplo), se recomienda repetir el análisis de las muestras afectadas (contaminantes y potencialmente contaminadas) tras activar el lavado específico de la cánula entre dos muestras, asociado al programa de análisis « PROTEIN(E) 6 » (opción « Lavado de la cánula »).
Esta opción permite realizar este lavado específico en todas las muestras analizadas con la técnica CAPILLARYS PROTEIN(E) 6 (Nota: la cadencia de análisis se divide por 2 si se selecciona esta opción).
LEA DETENIDAMENTE EL MANUAL DE INSTRUCCIONES DEL CAPILLARYS.
Teniendo en cuenta los principios analíticos de las técnicas actuales (principios de la electroforesis de zona, resolución y sensibilidad), no hay garantías en cuanto a la detección total de todos los componentes monoclonales.
La presencia de una inmunoglobulina monoclonal puede no ser detectada (por ejemplo, si hay una inmunoglobulina polimerizada, diseminada u oculta en el fondo policlonal); a la inversa, una ligera deformación del perfil puede indicar la presencia de una inmunoglobulina monoclonal. En todos los casos debe analizarse el contexto clínico y, si permite sospechar una gammapatía, se recomienda realizar un inmunotipado. Si persiste la duda, el resultado obtenido deberá confirmarse con una técnica de inmunofijación en gel de agarosa.

Resolución de problemas

Contacte con el Servicio de Asistencia Técnica de SEBIA en caso de que el análisis sea defectuoso.
Las fichas de datos de seguridad de los diferentes reactivos del kit, así como las informaciones relativas a la eliminación de los desechos, están disponibles en el Servicio de Asistencia Técnica de SEBIA.

CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS

Los resultados siguientes, obtenidos con el kit CAPILLARYS PROTEIN(E) 6 en el sistema CAPILLARYS mediante análisis cuantitativo, indican que la repetibilidad y la reproducibilidad del kit CAPILLARYS PROTEIN(E) 6 son muy buenas en todos los aspectos probados, con un coeficiente de variación medio del orden del 2,0 % en los porcentajes de cada fracción.
Los porcentajes de las diferentes fracciones proteicas se obtuvieron con los parámetros de integración por defecto del programa (alisado 2 y deriva automática).

Repetibilidad intraserial

Se analizaron cinco sueros (entre los que había un suero control normal y un suero control hipergamma) en el sistema CAPILLARYS con el kit CAPILLARYS PROTEIN(E) 6 y 2 lotes diferentes de tampón de análisis. Cada suero se analizó simultáneamente en los 8 capilares del sistema CAPILLARYS. Se calcularon las medias, desviaciones típicas (SD) y coeficientes de variación (CV) (n = 8) de cada muestra con cada lote de tampón.
La tabla siguiente muestra los valores medios (en %), desviaciones típicas (SD) y coeficientes de variación (CV) obtenidos para cada fracción proteica de los 5 sueros analizados:

FRACCIÓN	ALBÚMINA	ALFA-1	ALFA-2	BETA-1	BETA-2	GAMMA
Suero A: lote no. 1 / lote no. 2						
MEDIA (%)	60,8 / 60,6	3,8 / 3,7	8,8 / 8,5	6,1 / 6,3	4,7 / 4,8	15,8 / 16,1
SD	0,3 / 0,4	0,1 / 0,1	0,2 / 0,2	0,1 / 0,1	0,1 / 0,2	0,1 / 0,2
CV (%)	0,5 / 0,6	2,6 / 1,9	2,8 / 1,8	1,8 / 2,2	2,6 / 3,4	0,9 / 1,2
Suero B: lote no. 1 / lote no. 2						
MEDIA (%)	61,8 / 61,9	4,5 / 4,4	10,7 / 10,4	5,9 / 6,1	4,3 / 4,4	12,9 / 12,9
SD	0,3 / 0,5	0,1 / 0,05	0,1 / 0,1	0,1 / 0,1	0,2 / 0,2	0,1 / 0,2
CV (%)	0,4 / 0,8	2,5 / 1,1	1,0 / 1,3	1,4 / 2,3	3,7 / 4,0	1,2 / 1,6
Suero C: lote no. 1 / lote no. 2						
MEDIA (%)	60,6 / 60,9	4,4 / 4,4	10,6 / 10,3	5,9 / 6,0	4,4 / 4,4	14,2 / 14,0
SD	0,5 / 0,3	0,1 / 0,1	0,1 / 0,1	0,1 / 0,1	0,2 / 0,1	0,1 / 0,2
CV (%)	0,8 / 0,5	3,0 / 3,0	1,3 / 1,3	1,5 / 1,8	3,6 / 2,9	0,9 / 1,3
Suero D: lote no. 1 / lote no. 2						
MEDIA (%)	62,6 / 62,5	4,1 / 4,1	9,0 / 8,8	6,3 / 6,6	4,3 / 4,3	13,6 / 13,7
SD	0,5 / 0,5	0,1 / 0,1	0,2 / 0,3	0,1 / 0,2	0,1 / 0,1	0,2 / 0,2
CV (%)	0,8 / 0,9	2,1 / 3,5	2,1 / 2,9	1,6 / 2,7	2,8 / 2,4	1,6 / 1,4
Suero E: lote no. 1 / lote no. 2						
MEDIA (%)	47,6 / 47,0	5,2 / 5,2	7,5 / 7,3	5,5 / 5,7	5,4 / 5,5	28,8 / 29,3
SD	0,5 / 0,6	0,2 / 0,2	0,2 / 0,2	0,1 / 0,1	0,2 / 0,2	0,5 / 0,3
CV (%)	1,0 / 1,3	4,1 / 3,1	2,7 / 2,9	1,7 / 2,3	3,7 / 2,8	1,7 / 1,2
SD MAX	1,2	0,4	0,7	0,7	0,5	0,5
CV (%) MAX	2,0	7,0	7,0	7,0	7,0	4,0

NOTA : Los valores máximos de las desviaciones típicas y los coeficientes de variación (SD MÁX y CV (%) MÁX) han sido determinados mediante el análisis complementario de la repetibilidad de sueros control realizado en una serie de instrumentos. Son independientes de los valores presentados en la tabla de resultados de arriba.

Reproducibilidad interserial

Se analizaron ocho sueros en el sistema CAPILLARYS con el kit CAPILLARYS PROTEIN(E) 6. Los sueros se analizaron simultáneamente en los 8 capilares del sistema CAPILLARYS, y el análisis se repitió 10 veces con 3 lotes de tampón de análisis. Se calcularon las medias, desviaciones típicas (SD) y los coeficientes de variación (CV) (n = 10) de cada suero, para cada fracción y lote.
La tabla siguiente muestra los límites de los valores medios, SD y CV (%) obtenidos para las 8 muestras analizadas, y un coeficiente de variación medio calculado a partir de todos los coeficientes de variación (n = 24):

FRACCIÓN	MEDIA (%)	SD	CV (%)	CV MEDIO (%)
Albúmina	46,5 - 64,6	0,1 - 0,7	0,2 - 1,2	0,6
Alfa 1	3,0 - 5,3	0,04 - 0,2	1,1 - 4,0	2,6
Alfa 2	7,5 - 11,1	0,1 - 0,3	0,6 - 3,0	1,7
Beta 1	4,6 - 7,0	0,1 - 0,3	1,0 - 5,0	2,2
Beta 2	3,7 - 6,6	0,1 - 0,2	1,1 - 3,8	2,2
Gamma	9,4 - 29,4	0,1 - 0,3	0,6 - 2,1	1,0

Reproducibilidad interlotes

Se analizaron ocho sueros en el sistema CAPILLARYS con el kit CAPILLARYS PROTEIN(E) 6 con 3 lotes de tampón de análisis. Los sueros se analizaron simultáneamente en los 8 capilares del sistema CAPILLARYS, y el análisis se repitió 10 veces con cada lote. Se calcularon las medias, desviaciones típicas (SD) y los coeficientes de variación (CV) (n = 30) de cada suero.
La tabla siguiente muestra los límites de los valores medios, SD y CV (%) obtenidos para las 8 muestras analizadas con los 3 lotes de tampón de análisis, y un coeficiente de variación medio calculado a partir de todos los coeficientes de variación (n = 3):

FRACCIÓN	MEDIA (%)	SD	CV (%)	CV MEDIO (%)
Albúmina	46,7 - 64,4	0,3 - 0,6	0,4 - 1,1	0,7
Alfa 1	3,0 - 5,2	0,1 - 0,2	2,2 - 3,9	3,2
Alfa 2	7,7 - 10,8	0,1 - 0,3	1,2 - 3,3	2,2
Beta 1	4,6 - 6,7	0,1 - 0,4	1,8 - 5,5	2,9
Beta 2	3,9 - 6,6	0,1	1,7 - 3,4	2,5
Gamma	9,5 - 29,2	0,1 - 0,3	0,7 - 1,6	1,2

Exactitud

El análisis de 135 muestras diferentes, normales y patológicas, mediante electroforesis capilar en el sistema CAPILLARYS con el kit CAPILLARYS PROTEIN(E) 6 y con un sistema comercial de geles de agarosa, muestra una buena correlación entre los dos sistemas de análisis para el conjunto de las seis fracciones proteicas, con una sensibilidad media del 93,0 % y una especificidad media del 83,9 % respecto a la técnica en gel de agarosa, calculadas según el método recomendado (Wendling, 1986).
La tabla siguiente muestra los resultados del análisis de regresión lineal, y = CAPILLARYS PROTEIN(E) 6:

Fracción	Coeficiente de correlación	Punto de corte en y	Pendiente	Límites de los % CAPILLARYS PROTEIN(E) 6
Albúmina	0,973	-4,539	0,972	32,2 - 74,3
Alfa 1	0,975	1,199	1,519	2,9 - 13,9
Alfa 2	0,947	0,073	1,028	7,1 - 20,1
Beta 1	0,850	-0,903	0,932	4,0 - 18,8
Beta 2	0,969	0,478	1,189	1,2 - 27,4
Gamma	0,969	3,724	0,959	0,7 - 49,8

Sensibilidad

Se diluyó serialmente un suero patológico con una proteína monoclonal de 4,29 g/L y luego se realizó la migración de las diluciones en el sistema CAPILLARYS con el kit CAPILLARYS PROTEIN(E) 6. La mayor dilución que permitía ver la banda monoclonal fue la de 1/16. La menor concentración de una banda monoclonal detectada fue pues de 0,27 g/L en esta muestra.

NOTA: El límite de detección de una paraproteína puede variar en función de la posición de la banda monoclonal y del fondo policlonal de la zona de las gammaglobulinas.

Linealidad

Una solución de albúmina de 52,0 g/L y una solución de gammaglobulinas de 31,0 g/L (concentraciones proteicas determinadas por nefelometría a 280 nm) han sido mezcladas en proporciones variables de 10 en 10 (100 % de solución de albúmina + 0 % de solución de gammaglobulinas, 90 % + 10 %, etcétera..., 0 % de solución de albúmina + 100 % de solución de gammaglobulinas), y las mezclas han sido analizadas con la técnica CAPILLARYS PROTEIN(E) 6.
Los resultados han mostrado que el porcentaje obtenido de cada fracción está perfectamente correlacionado con el porcentaje teórico de cada una de las fracciones en la mezcla, y que toda variación es detectada de forma lineal con la técnica CAPILLARYS PROTEIN(E) 6.
La técnica CAPILLARYS PROTEIN(E) 6 es por tanto perfectamente lineal para las fracciones albúmina y gammaglobulinas en la gama de concentraciones estudiadas (entre 0,0 y 52,0 g/L de albúmina y entre 0,0 y 31,0 g/L de gammaglobulinas).

BIBLIOGRAPHIE / BIBLIOGRAPHY

1. Clark R *et al*. Rapid capillary electrophoretic analysis of human serum proteins : qualitative comparison with high-throughput agarose gel electrophoresis. *J. Chromatogr. A*, 744, 205-213 (1996).
2. Henskens Y *et al*. Detection and identification of monoclonal gammopathies by capillary electrophoresis. *Clin. Chem*., 44, 1184-1190 (1998).
3. Jellum E *et al*. Diagnostic applications of chromatography and capillary electrophoresis. *J. Chromatogr. B*, 689, 155-164 (1997).
4. Jenkins MA and Guerin MD. Quantification of serum proteins using capillary electrophoresis. *Ann. Clin. Biochem*., 32, 493-497 (1995).
5. Jenkins MA *et al*. Evaluation of serum protein separation by capillary electrophoresis : prospective analysis of 1000 specimens. *J. Chromatogr. B*, 672, 241-251 (1995).
6. Jenkins MA and Guerin MD. Capillary electrophoresis procedures for serum protein analysis : comparison with established techniques. *J. Chromatogr. B*, 699, 257-268 (1997).
7. Jenkins MA and Ratnaike S. Five unusual serum protein presentations found by capillary electrophoresis in the clinical laboratory. *J. Biochem. Biophys. Methods*, 41, 31-47 (1999).
8. Katzmann JA *et al*. Identification of monoclonal proteins in serum : A quantitative comparison of acetate, agarose gel, and capillary electrophoresis. *Electrophoresis*, 18, 1775-1780 (1997).
9. Landers JP. Clinical Capillary Electrophoresis. *Clin. Chem*., 41, 495-509 (1995).
10. Oda RP *et al*. Capillary electrophoresis as a clinical tool for the analysis of protein in serum and other body fluids. *Electrophoresis*, 18, 1715-1723 (1997).
11. Wijnen PA and van Dieijen-Visser M. Capillary Electrophoresis of serum proteins : Reproducibility, comparison with agarose gel electrophoresis and a review of the literature. *Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem*., 34, 535-545 (1996).
12. Wendling A. Procédures de diagnostic ou de dépistage : Justification et validité d'un test de diagnostic ou de dépistage-sensibilité-spécificité. *Impact-Internat*, 1986 ; Sept : 93-97.
13. Le Carrer D, Bach-Ngohou K. L'électrophorèse capillaire automatisée en biologie clinique. Spectra Biologie, 146 : 47 - 52 (2005).

SCHÉMAS / FIGURES

PROFILS ÉLECTROPHORÉTIQUES - ELECTROPHORETIC PATTERNS

Figure 1

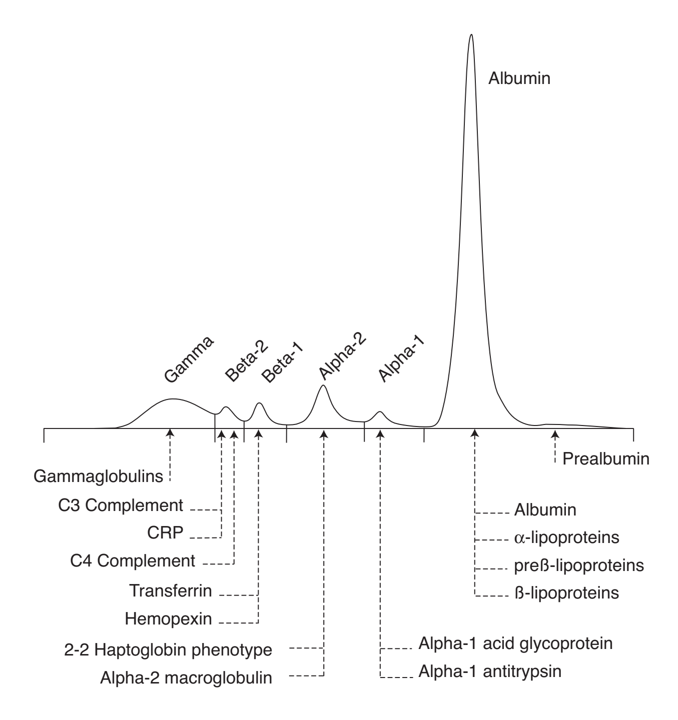
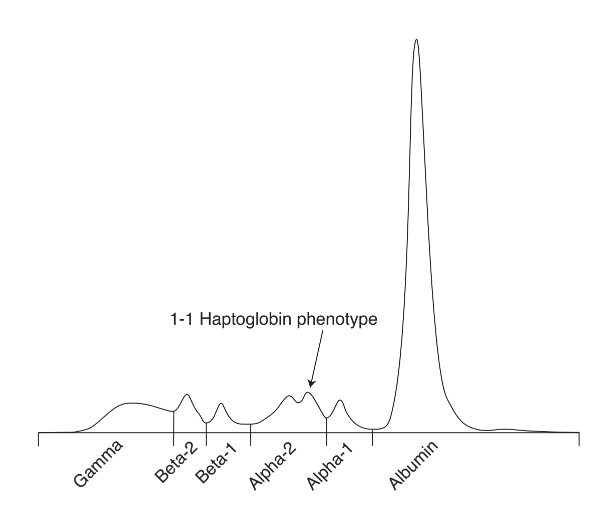


Figure 2



SCHÉMAS / FIGURES

PROFILS ÉLECTROPHORÉTIQUES - ELECTROPHORETIC PATTERNS

Figure 3

